WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6:

G02B 21/22

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 96/24875

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

15. August 1996 (15.08.96)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP96/00533

A1

(22) Internationales Anmeldedatum: 8. Februar 1996 (08.02.96)

(30) Prioritätsdaten:

195 04 108.9

8. Februar 1995 (08.02.95)

DE

195 19 687.2

30. Mai 1995 (30.05.95) DE

(71)(72) Anmelder und Erfinder: SCHWERTNER, Dietmar [DE/DE]; Closewitzerstrasse 3, D-07743 Jena (DE). SCHWERTNER, Michael [DE/DE]; Bertold-Brecht-Strasse 16, D-07745 Jena (DE).

(74) Anwälte: KRUSPIG, Volkmar usw.; Meissner, Bolte & Partner, Postfach 86 06 24, D-81633 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH. DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen

(54) Title: PROCESS AND DEVICE FOR HIGH-RESOLUTION STEREOMICROSCOPY WITH EXTENDED SPACIAL DEPTH

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND ANORDNUNG ZUR HOCHAUFLÖSENDEN STEREOMIKROSKOPIE MIT ERWEITERTER RAUMTIEFE

(57) Abstract

A process and device for high-resolution stereomicroscopy with extended spacial depth, enabling stereoscopic observation of a microscopic object at high magnifications up to the limit of resolution of light. The many different advantageous physical contrasting techniques of conventional high-resolution light microscopy can still be used without restriction. For this purpose, mechanically switchable assemblies are used in the microscope radiation path on the side of the image to generate parallactic piles of sectional views. These are processed by non-linear field depth extension to generate two parallactic projections of the microscopic object with extended depth of field, the stereoscopic observation of which makes for three-dimensional display of the microscopic object. In particular through the improvement of the non-linear field depth extension process at the stage of synthesis of the resulting image, transparent and semi-transparent structures can also be processed, this being a precondition for displaying biological objects.

(57) Zusammenfassung

Mit dem erfindungsgernäßen Verfahren und Anordnung zur hochauflösenden Stereomikroskopie mit erweiterter Raumtiefe wird eine stereoskopische Betrachtung eines mikroskopischen Objektes bei hohen Vergrößerungen bis an die Lichtauflösungsgrenze ermöglicht. Die vielseitigen, vorteilhaften physikalischen Kontrastierungstechniken der

KH OH OE Ob

konventionellen hochauflösenden Lichtmikroskopie bleiben uneingeschränkt nutzbar. Hierfür werden mechanisch schaltbare Baugruppen im abbildungsseitigen Strahlengang des Mikroskopes zur Generierung parallaktischer Schnittbildstapel eingesetzt, und es erfolgt deren Verarbeitung durch ein Verfahren der nichtlinearen Schärfentiefenerweiterung (STE) zur Generierung zweier parallaktischer Projektionen des mikroskopischen Objektes mit erweiterter Schärfentiefe, durch deren stereoskopische Betrachtung die räumliche Darstellung des mikroskopischen Objektes möglich ist. Insbesondere durch die Verbesserung des Verfahrens der nichtlinearen Schärfentiefenerweiterung (STE) im Prozeßschritt der Ergebnisbildsynthese können auch transparente und halbtransparente Strukturen verarbeitet werden, was eine Voraussetzung zur Darstellung biologischer Objekte ist.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL.	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Ruminien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ.	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	น	Liechtenstein	SK	Slowakei
Cl	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	T.J	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dånemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi	•••	· reason

Verfahren und Anordnung zur hochauflösenden Stereomikroskopie mit erweiterter Raumtiefe

5

Beschreibung

10

15

20

25

30

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Anordnung zur Durchführung des Verfahrens zur hochauflösenden Stereomikroskopie mit erweiterter Raumtiefe.

Es findet Anwendung bei einkanaligen Mikroskopsystemen, insbesondere bei einobjektivigen konventionellen Lichtmikroskopen. Die Erfinding ermöglicht die stereoskopische Darstellung der räumlichen Struktur mikroskopischer Objekte bei hohen Vergrößerungen ohne Auflösungsverlust.

Bekannte stereomikroskopische Beobachtungsverfahren basieren auf zweikanaligen Mikroskopsystemen, z.B. Greenough-Typ, und beschränken sich auf kleine Vergrößerungen (100x). Eine weitere Steigerung der Vergrößerung ist auf Grund der kleinen Objektivapertur nicht sinnvoll.

Eine hochauflösende stereomikroskopische Beobachtung bei hohen Vergrößerungen konnte sich aufgrund der fehlenden räumlichen Tiefe nicht durchsetzen.

Konfokale Laserscanning-Verfahren beseitigen zwar diesen Nachteil, bedingen aber Einschränkungen bezüglich der Art der mikroskopischen Objekte und Kontrastverfahren.

2

Die aus Abbott and Nugent: "3-D Widefieldmicroscopy"; in Bioimaging (1993) S. 207-213 bekannte Anwendung der aus der konfokalen Mikroskopie bekannten Technik optischer Schnitte auf konventionelle Lichtmikroskope hoher Auflösung ermöglicht zwar den Zugang zu weiteren Objektklassen, zeigt jedoch prinzipielle Probleme bei der 3D-Rekonstruktion.

Die Entwicklung der konfokalen Laserscanning-Mikroskopie gestattet durch eine Verbesserung des longitudinalen Auflösungsvermögens die Aufnahme von 3D-Bildinformationen. Dabei wird die räumliche Struktur des mikroskopischen Objektes durch eine Serie optischer Schnitte erfaßt und in Form eines 3D-Datensatzes im Computer gespeichert. Mittels geeigneter Software ist dann die 3D-Rekonstruktion des mikroskopischen Objektes möglich.

Bedingt durch die konfokale Anordnung des Mikroskopsystems treten aber starke Intensitätsverluste auf, so daß die hochauflösende räumliche Darstellung bisher nur bei stark fluoreszierenden oder reflektierenden Objekten befriedigende Ergebnisse zeigte.

In letzter Zeit wurde versucht, die aus der konfokalen Laserscanning-Mikroskopie bekannten Technik der optischen Schnitte auch auf konventionelle Lichtmikroskopie mit dem Ziel anzuwenden, auch nicht fluoreszierende und schwach kontrastierende Objektstrukturen einer dreidimensionalen Beobachtung zugänglich zu machen.

Dabei besteht die Notwendigkeit, die im Vergleich zu konfokalen Mikroskopsystemen schlechte longitudinale Auflösung der 3D-Bildinformationen zu verbessern.

Hierzu wurde vorgeschlagen, lineare Bildverarbeitungstechni-35 ken einzusetzen, die auf Fouriertransformationsverfahren in Verbindung mit inversen Filtertechniken beruhen.

10

15

20

3

(Vgl. Byron Willis u.a.: "Developments in Three-Dim. Stereo Brightfield Microscopy research and Technique 24 (1993) S. 437-451).

5 Auf Grund der räumlichen Struktur der optischen Übertragungsfunktion des konventionellen Lichtmikroskops ist jedoch die
vollständige Unterdrückung von Bildinformationen aus benachbarten optischen Schnitten prinzipiell nicht möglich. Dadurch
kann der Auflösungsgrad der Bildinformation in lateraler
10 Richtung nicht wie bei optischen Schnitten mit konfokaler
Laserscanningtechnik durch einen gleichwertigen Auflösunsgrad
in longitudinale Richtung ergänzt werden.

Die durch optische Schnitte mit konventionellen Lichtmikroskopen erreichbaren Datenstrukturen sind somit nicht ausreichend für eine erfolgreiche 3D-Rekonstruktion des mikroskopischen Objektes analog zu konfokalen Lasersanningtechniken.

Es ist Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren und eine Anordnung zur hochauflösenden stereoskopischen Beobachtung räumlicher Strukturen mikroskopischer Objekte unter Vermeidung der
Nachteile des Standes der Technik anzugeben.

Die Lösung der Auafgabe der Erfindung erfolgt mit einem Gegenstand nach den Merkmalen der Patentansprüche 1 bzw. 9, wobei die Unteransprüche mindestens zweckmäßige Ausgestaltungen und Weiterbildungen umfassen.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird insbesondere auf konventionelle, einobjektivige Lichtmikroskope angewendet und ermöglicht dadurch auch die räumliche Darstellung nicht fluoreszierender und schwach kontrastierender Objekte. Dabei werden hohe Vergrößerungen ohne Auflösungsverlust erreicht und die eingangs beschriebenen Nachteile vermieden.

15

25

4

Gemäß einem Grundgedanken der Erfindung wird die parallaktische Bildinformation bereits direkt bei der Bildgenerierung aufgenommen und nicht erst durch Projektion aus einem 3D-Datenwürfel abgeleitet .

5

10

15

20

30

Die Nachteile einer vollständigen 3D-Rekonstruktion werden vermieden, indem auf eine Schärfentiefenerweiterung (STE) von zwei parallaktischen 2D-Projektionen übergegangen wird. Diese wird durch ein nichtlineares elektronisches Bildverarbeitungsverfahren erzeugt und führt zu einer stereoskopischen Darstellung in Form von Stereobildpaaren mit erweiterter Raumtiefe.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren ergeben sich bei seiner Anwendung auf dem Gebiet der konventionellen Lichtmikroskopie vorteilhafte Mikroskopsysteme, welche im Vergleich zu konfokalen Laserscanning-Mikroskopen weniger kostspielig sind und die darüber hinaus für bisher nicht zugängliche Objektklassen eine hochauflösende stereoskopische Beobachtung zulassen. Die bisherigen klassischen Kontrastverfahren der Lichtmikroskopie sind weiterhin nutzbar und werden durch neue, computergenerierte Kontrastverfahren ergänzt.

Verglichen mit konfokalen Laserscanning-Mikroskopen ist eine deutlich kostengünstigere Computerausrüstung einsetzbar und es wird weniger Rechenzeit benötigt.

Das erfindungsgemäße Verfahren sowie die zugehörige Anordnung sollen anhand von Ausführungsbeispielen und unter Zuhilfenahme von Figuren näher erläutert werden erläutert.

Hierbei zeigen:

Fig. 1 eine prinzipielle Darstellung des Ablaufes des
Verfahrens zur hochauflösenden Stereomikroskopie
mit erweiterter Raumtiefe;

5

- Fig. 2 die Verhältnisse im Objektraum des Mikroskops;
- Fig. 3 die Projektionsrichtungen der optischen Abbildungen der linken und rechten Schnittbildserien;
- Fig. 4 eine Anordnung zur Bildgenerierung durch zeitmultiplex schaltbare Objektivbaugruppen, die im abbildungsseitigen Strahlengang des Mikroskops
 angeordnet sind;
 - Fig. 5 eine technische Realsierungsform einer Anordnung für die abbildungsseitige Bildgenerierung;
- 15 Fig. 6 eine schematische Darstellung wesentlicher Komponenten einer Objektivbaugruppe, die im abbildungsseitigen Strahlengang des Mikroskops angeordnet sind
- 20 Fig. 5 eine technische Realisierungsform einer Anordnung für die abbildungsseitige Bildgenerierung;
- Fig. 6 eine schematische Darstellung wesentlicher Komponenten eines interaktiven Computermikroskops zur
 Realisierung des Verfahrens gemäß Ausführungsbeispiel;
 - Fig. 7 einen schematischen Ablauf der Prozeßschritte unter Verwendung des beschriebenen Computermikroskops;
 - Fig. 8 eine prinzipielle Darstellung eines Verfahrens für eine korrekte schärfentiefenerweiterte Abbildung transparenter Strukturen;
- 35 Fig. 9 Bilddaten des Schnittbildstapels und des Schärfebildstapels in einem dreidimensionalen Array;

- Fig. 10 den prinzipiellen Ablauf zur Erhöhung oder Verminderung der Transparenz einer schärfentiefenerweiterten Abbildung;
- Fig.11 eine Darstellung zur Illustration der Einbindung der Strukturbild-Gewinnung und der strukturgesteuerten Bildmischung in das STE-Verfahren als Ausführungsbeispiel des strukturgesteuerten Mischverfahrens für zwei Ausgangsbilder;
 - Fig. 12 eine prinzipielle Darstellung der strukturgesteuerten Bildmischung von zwei Ausgangsbildern, die keine durch den STE-Prozeß zugeordnete Strukturdaten aufweisen; und
 - Fig. 13 die Einbindung eines Dynamik-Kompressionsschrittes in den Bildaufbereitungs- und Darstellungsprozeß.

Beim Verfahren handelt es sich gemäß Fig. 1 um einen mehrstufigen, sequentiellen, sich zyklisch wiederholenden Prozeß.

Im Prozeßabschnitt der Bildgenerierung BG werden zwei Serien optischer Schnitte, S_L und S_R, aufgenommen. Die Schnittserien können durch verschiedene Anordnungen zur Bildgenerierung erzeugt werden und weisen folgende Merkmale auf:

- Beide Schnittserien, die jeweils die Raumtiefe des mikrcskopischen Objektes erfassen bestehen aus der gleichen Anzahl optischer Schnitte.
- 2. Jeder optische Schnitt enthält die Projektion des mikroskopischen Objektes in Form einer optischen Abbildung mit begrenzter Schärfentiefe δz (Vgl. Fig. 2).

5

10

15

 Die Projektionsrichtungen der optischen Abbildung des mikroskopischen Objektes sind innerhalb einer Schnittserie konstant.

5

4. Die Projektionsrichtungen der optischen Abbildungen beider Serien S_L und S_R bilden einen Winkel, der dem Konvergenzwinkel der Augenachse für stereoskopisches Sehen γ entspricht. (Vgl. Fig. 3)

10

Der weitere Ablauf des Verfahrens weist folgende Merkmale auf.

 Die optischen Abbildungen der Schnittserien werden mit elektronischen Mitteln aufgenommen und in digitaler Form gespeichert.

2. Der Prozeß der Bildverarbeitung BV ist für beide Schnittserien S_L und S_R gleich.

20

25

30

3. Der Gesamtprozeß wird zyklisch wiederholt.

Die Erzeugung der Schnitterien S_L und S_R wird am Beispiel einer Anordnung zur Bildgenerierung im dingseitigen Strahlengang des Mikroskops verdeutlicht. Fig. 2 zeigt die Verhältnisse im Objektraum des Mikroskops.

Zur Erzeugung der Schnittserie S_L befindet sich das mikroskopische Objekt O auf einem Kippadapter K. Dieser befindet sich auf dem Mikroskoptisch und neigt das mikroskopische Objekt O um den Kippwinkel θ_L relativ zur optischen Achse z des Mikroskops aus der Objektebene OE aus.

8

Zur Erzeugung der einzelnen optischen Schnitte bewegt sich der Mikroskoptisch um den Schnittabstand Δz entlang der optischen Achse z des Mikroskops.

5 Der Schnittabstand Δz ist kleiner als die Schärfentiefe δz des optischen Systems.

Alle optischen Schnitte einer Schnittbildserie werden unter dem gleichen Kippwinkel erzeugt.

Die Erzeugung der Schnittserie S_R erfolgt analog durch Neigen eines Kippadapters um den Kippwinkel θ_R relativ zur optischen Achse z des Mikroskops.

Die Kippwinkel θ_L und θ_R liegen in einer Ebene. Die Summe der Beträge von θL und θR entspricht dem Konvergenzwinkel γ der

Augenachsen für stereoskopisches Sehen. (Vgl. Fig. 3) Die Erzeugung der Schnittserien S_L und S_R im Prozeßabschnitt der Bildgenerierung BG ist jedoch nicht nur durch Objekttranslation möglich.

20 Prinzipiell sind auch Anordnungen zur Bildgenerierung im beleuchtungsseitigen und abbildungsseitigen Strahlengang der lichtmikroskopischen Anordnung möglich.

Fig. 4 zeigt als ein weiteres Beispiel eine Anordnung zur
25 Bildgenerierung durch zeitmultiplex schaltbare Objektivbaugruppen, die im abbildungsseitigen Strahlengang des Mikroskops angeordnet sind.

Zur Erzeugung der Schnittserie S_L befindet sich das mikroskopio pische Objekt in der Objektebene OE des Mikroskops. Das auf Bildweite unendlich korrigierte Objektiv Ob wird um den Kippwinkel θ_L relativ zur optischen Achse z des Mikroskops geneigt.

9

Der Scheitelpunkt des Kippwinkels θ_L liegt im Fokus des Objektives Ob auf dem Schnittpunkt der optischen Achse z des Mikroskops mit der Objektebene OE.

- Zur Erzeugung der einzelnen optischen Schnitte bewegt sich der Mikroskoptisch um den Schnittabstand Δz entlang der optischen Achse z des Mikroskops. Der Schnittabstand Δz ist kleiner als die Schärfentiefe δz des optischen Systems. (Vgl. auch Fig. 2 und 3).
- 10 Alle optischen Schnitte einer Schnittserie werden bei gleichem Kippwinkel erzeugt. Die Erzeugung der Schnittserie S_R erfolgt analog durch das Neigen des Objektivs Ob um den Kippwinkel θ_R relativ zur optischen Achse z des Mikroskops.
- Im Prozeß der Bildgenerierung erfolgt die Einstellung der Kippwinkel θ_L , und θ_R zeitlich seriell in alternierender Reihenfolge. Die Summe der Beträge von θ_L und θ_R , entspricht dem Konvergenzwinkel γ der Augenachsen für stereoskopisches Sehen. Ein Konvergenzwinkel von 4° führt bereits zu guten stereoskopischen Bildern.

Dem Objektiv Ob nachgeordnet ist eine Baugruppe K zur Korrektur des optischen Strahlenganges. Hier können verschiedene einfache oder zusammengesetzte optische Baugruppen eingesetzt werden, die bei geringer Bauhöhe möglichst ohne Farbstreuung arbeiten.

In Fig. 4 wird die Korrektur des Unendlichstrahlenganges am Beispiel des Einsatzes eines asymmetrisch betriebenen Spiegelprismas nach Amici dargestellt, dessen Spiegelfläche S um den Korrekturwinkel θ_K relativ zur optischen Achse z des Mikroskops geneigt ist. Nach der Korrekturbaugruppe K können weitere optische Baugruppen, wie z.B. DIC-Prismen D, Fluoreszenzfilterkombinationen F, Polarisator P und Tubusline T in der üblichen Weise angeordnet sein.

25

10

Fig. 5 zeigt eine Möglichkeit zur technischen Realisierung einer Anordnung für die abbildungsseitige Bildgenerierung.

Das Objekt O wird in der Objektivhalterung OH aufgenommen, welche als eine runde drehbare Platte durch das Lager L geführt wird und über um 180° zueinander versetzt Raststellungen verfügt. Die Drehung der Objektivhalterung OH kann vorteilhafterweise durch einen Elektromotor erfolgen (nicht gezeichnet).

Die Objektivaufnahme OA befindet sich auf einer Keilfläche F und ist exzentrisch zur Drehachse des Lagers L, welche mit der optischen Achse z des Mikroskops zusammenfällt, ausgeführt. Der Keilwinkel der Fläche F erzeugt bei Drehung der Objektivhalterung OH um 180° die beiden Kippwinkel θ_L , und θ_R (vgl. Fig. 3).

Die ein Prisma aufweisende Korrekturbaugruppe K ist über die Justierhalterung KH fest mit der Objektivhalterung OH verbunden und führt deren Rotationsbewegung mit aus.

Beiden Anordnungen zur Bildgenerierung BG ist die zeitmultiplexe Ausnutzung des optischen Übertragungsweges des Mikroskops gemeinsam. Diese schafft die Voraussetzung zur Trennung
der Informationskanäle für die Übertragung der Bildinformationen, die dem rechten bzw. linken Auge des Betrachters zugeordnet sind.

Im Unterschied zu früher vorgeschlagenen Lösungen für die Trennung der Informationskanäle, die auf einer Teilung der Objektiveintrittspupille des Mikroskops beruhen, (räumliche Codierung der Kanaltrennung), kann durch zeitmultiplex arbeitende Anordnungen (zeitliche Codierung der Kanaltrennung) die volle Apertur des Mikroskops erhalten werden. Dadurch ist die

15

20

25

11

Aufnahme stereoskopischer Bildformationen mit einer hohen Auflösung möglich.

Die in der Prozeßstufe der Bildgenerierung BG aufgenommenen Schnittserien S enthalten somit n optische Schnitte. Es sind die optischen Abbildungen der Projektion P_i des mikroskopischen Objektes O unter dem Winkel θ mit der Schärfentiefe δz nach folgender Beziehung:

$$S = \sum_{i=1}^{n} (P_{i} \delta z(\theta))$$

Die Serien unterscheiden sich durch den alternierend wechselnden Kippwinkel θ .

15 Durch den Kippwinkel θ_L wird die Serie S_L , durch den Kippwinkel θ_R wird sie Serie S_R erzeugt.

In der Prozeßstufe der Bildverarbeitung BV werden aus den beiden Schnittserien S_L und S_R zwei schärfentiefenerweiterte Abbildungen rekonstruiert, die den parallaktischen Projektionen des mikroskopischen Objektes unter dem Konvergenzwinkel γ entsprechen.

Aus n Abbildungen der Schärfentiefe δz der Schnittserien S_L bzw. S_R , die den Projektionen P_i des mikroskopischen Objektes O unter dem Kippwinkel θ_L bzw. θ_R entsprechen, werden jeweils deren schärfentiefenerweiterte Abbildungen $P\delta z$ ' (θ_L) bzw. $P\delta z$ ' (θ_R) rekonstruiert.

30

20

12

$$\sum_{i=1}^{n} P_{i} \delta z(\theta_{L}) \rightarrow STE \rightarrow P\delta z'(\theta_{L}) \qquad \text{mit:} \qquad \qquad \gamma = \left|\theta_{L}\right| + \left|\theta_{R}\right|$$

$$\sum_{i=1}^{n} P_{i} \delta z(\theta_{R}) \to STE \to P\delta z'(\theta_{R}) \qquad \qquad \delta z < \delta z' \le n * \delta z$$

5

10

25

Geeignete Verfahren zur Schärfentiefenerweiterung (STE) sind aus der Literatur bekannt. (Vgl. Pieper, R.-J., Korpel, A., "Image processing for extended depth of field", Applied Optics 22, 144 (1983) und Häusler, G., Kömer, E., "A simple focussing criterion", Applied Optics 23, 2468 (1984).

In der Prozeßstufe der Bildwiedergabe BW wird diesen Projektionen die Funktion von zwei Teilbildern eines Stereobildpaares zugewiesen.

Das geschieht, indem deren schärfentiefenerweitete Abbildungen gespeichert und mit Hilfe geeigneter Stereoplaytechniken dem Betrachter wiedergegeben werden.

Hierfür sind verschiedene zeitserielle oder -parallele Stereodisplaytechniken bekannt.

20 (Vgl. UNOUE, S. "Video Microscopy" S. 454 u. 455; u. KAPPA Meßtechnik GmbH, "3D Video scan converter S M 100).

Indem jedes Teilbild nur von dem zugeordneten Auge gesehen wird, entsteht aus den beiden schärfetiefenerweiterten Abbildungen der Projektionen P δ z'(θ_L) und P δ z'(θ_R) des mikroskopischen Objektes dessen raumtiefenerweitertes stereoskopisches Bild.

Der Gesamtprozeß wird zyklisch wiederholt. Durch geeignete
30 Bildgenerierungstechniken in Verbindung mit schnellen Bildverarbeitungsalgorithmen läßt sich die Zykluszeit verkürzen.
Dadurch können zeitlich veränderliche mikroskopische Prozesse
dieser Darstellungsform zugänglich gemacht werden.

13

Fig. 6 zeigt schematisch die wesentlichen Komponenten eines interaktiven Computermikroskops zur Realisierung des zuvor beschriebenen Verfahrens.

5

10

15

20

25

30

Im optischen Übertragungsweg einer weitgehend konventionellen lichtmikroskopischen Anordnung, bestehend aus der Lichtquelle 1, dem Kollektor 2, dem Kondensor 3, dem Mikroskoptisch 4, dem Objektiv 5 und der Tubuslinse 6 ist eine der zuvor beschriebenen Vorrichtungen zur Erzeugung parallaktischer Schnittbildserien 7 angeordnet.

Der Computer 9 steuert die Vorrichtung zur Erzeugung parallaktischer Schnittbildserien 7, die elektronische Kamera 8 und einen im Computer 9 enthaltenen Framegrabber 12 zur Digitalisierung des Videosignals der elektronischen Kamera.

Die Ergebnisbilder des STE-Verfahrens werden im RAM des Computers gespeichert und für die Bildwiedergabe über den Computermonitor 10, der gleichzeitig als Stereodisplay genutzt wird, zur Verfügung gestellt und bei Bedarf auf einen Massenspeicher übertragen.

Durch die Speicherung der STE-Ergebnisbilder ist der Prozeß der Bildgenerierung BG von dem der Bildwiedergabe BW (vgl. Fig. 1) entkoppelt. Die STE-Ergebnisbilder, bilden die beiden Teilbilder eines Stereobildpaares, welche alternierend mit hoher Bildwiederholfrequenz auf dem Computermonitor 10 wiedergegeben werden (vgl. Fig.6). Über einen elektrooptischen Shutter 11, der synchron zur alternierenden Bildwiedergabe durch den Computer gesteuert wird, ist eine flimmerfreie Beobachtung des Stereobildes möglich. Die Darstellung des Stereobildes ist prinzipiell auch mit anderen Stereodisplaytechniken, wie z.B. mit autostereoskopischen Anordnungen möglich.

14

Die Steuerung der einzelnen Komponenten ist so aufeinander abgestimmt, daß die Erzeugung und Aufnahme parallaktischer Schnittbildserien unter verschiedenen Aufnahmebedingungen automatisch erfolgen kann.

5

10

20

Figur 7 zeigt schematisch den Ablaufplan der einzelnen Prozeßschritte des beschriebenen Computermikroskopes zur automatischen Generierung der parallaktischen Schnittbildserien, deren Verarbeitung im STEProzeß zu schärfentiefenerweiterten parallaktischen Projektionen und die stereoskoplische Bildwiedergabe der parallaktischen Projektionen zur räumlichen Darstellung des mikroskopischen Objektes.

Im Folgenden werden die funktionsbestimmenden softwarespezi15 fischen Komponenten des Systems erläutert.

Dem Verfahren der nichtlinearen SchärfenTiefenErweiterung (STE) kommt im Gesamtsystem eine zentrale Bedeutung zu. Als Eingangsdaten derartiger Verfahren werden wie schon erwähnt Serien optischer Abbildungen aufgenommen und in Form von Schnittbildstapeln gespeichert.

Das Verfahren der STE besteht aus zwei Prozeßabschnitten. In einem ersten Prozeßabschnitt der Bildanalyse werden durch ein Schärfekriterium die Orte lokaler Schärfe in den einzelnen Abbildungen des Schnittbildstapels festgestellt und jedem Bildelement eines jeden Teilbildes des Schnittbildstapels ein Schärfewert zugewiesen.

In einem zweiten Prozeßabschnitt der Bildsynthese werden die Pixelintensitäten derjenigen Bildorte, die durch das Schärfekriterium als scharf erkannt wurden in das Ergebnisbild übernommen. Auf diese Weise wird die optische Abbildung des gesamten Objektraumes, der zuvor durch den Schnittbildstapel erfaßt wurde, mit erweiterter Schärfentiefe rekonstruiert.

15

Die Voraussetzung zum Einsatz des STE-Verfahrens für die hochauflösende Stereomikroskopie mit erweiterter Raumtiefe ist jedoch erst dann gegeben, wenn durch dieses Verfahren die Verarbeitung transparenter Objektstrukturen, wie sie in der Durchlichtmikroskopie auftreten, möglich wird.

Bisher konnten jedoch nur lichtundurchlässige Objektstrukturen verarbeitet werden. Der Grund dafür ist, daß für den Prozeßabschnitt der Bildsynthese zur Rekonstruktion des Ergebnisbildes nur jeweils diskrete Ebenen des Schnittbildstapels mit optimaler Fokusposition durch das Schärfekriterium gefunden und in das Ergebnisbild unverändert übernommen wurden. Mit transparenten Objekten, für die das Auftreten von mehreren scharfen, aber in unterschiedlichen Fokusebenen übereinanderliegenden Bildelementen charakteristisch ist, sind bekannte Verfahren zur Bildsynthese überfordert, da zur Rekonstruktion des Ergebnisbildes nur Informationen aus einer diskreten Schnittbildebene zugelassen werden. Für eine korrekte schärfentiefenerweiterte Abbildung transparenter Strukturen müssen jedoch auch als scharf erkannte, übereinanderliegende Objektstrukturen verschiedener Schnittbildebenen im Ergebnisbild darstellbar sein.

25 Entsprechend Figur 8 wird dieses Problem dadurch gelöst, daß zur synthetischen Rekonstruktion schärfentiefenerweiterter Abbildungen transparenter Objekte Bildinformationen aus allen Bildebenen des Schnittbildstapels zugelassen werden, wobei der Anteil der Bildinformation, der dabei aus den betreffenden Bildelementen der einzelnen Schnittbildebenen zur Rekonstruktion der Bildelemente des Ergebnisbildes dient, durch eine Wichtungsfunktion gesteuert wird. Als Argumente der Wichtungsfunktion dienen die im Prozeßabschnitt der Bildanalyse vom Schärfekriterium erzeugten pixelbezogenen Schärfewerte.

10

15

Auch bei nichttransparenten Objekten bringt die Korrelierung mehrerer Schnittbildebenen qualitative Vorteile bei der Bildrekonstruktion.

5

Für die Rekonstruktion des Ergebnisbildes im Prozeßabschnitt der Bildsynthese kommt der Wichtungsfunktion ebenso eine entscheidende Bedeutung zu, wie dem Schärfekriterium im Prozeßabschnitt der Bildanalyse.

10

Eine solche Wichtungsfunktion kann zum Beispiel in Form einer gewichteten Mittelwertbildung realisiert werden, die hier als Beispiel ausgeführt werden soll:

Wenn die Bilddaten des Schnittbildstapels und des Schärfebildstapels in einem dreidimensionalen Array, wie in Figur 9 ersichtlich, angeordnet sind, ergibt sich für die Intensität jedes Pixel E(xy) des Ergebnisbildes:

20

$$E(x;y) = \frac{\sum_{z=1}^{z_{max}} (S(x;y;z) * P(x;y;z))}{\sum_{z=1}^{z_{max}} (S(x;y;z))}$$

Dazu wurde folgendes vorausgesetzt:

P(x;y;z) bezeichnet die Intensitäts-Daten des Pixels mit den Koordinaten (x;y) innerhalb des Schnittbildes Nr. z des Schnittbildstapels.

Analog zum Schnittbildstapel existiert ein

"Schärfebildstapel", wobei jedem Pixel P(x;y;z) eindeutig
ein Schärfewert S(x;y;z) zugeordnet ist.

17

Die Schärfewerte wurden im vorherigen Prozeßabschnitt der Bildanalyse für jeden Pixel(x;y;z) ermittelt.

Das Ergebnisbild hat den gleichen Aufbau und die gleichen Dimensionen wie ein Schnittbild des Schnittbildstapels. E(x;y) bezeichnet die Intensitätsdaten des Pixels mit den Koordinaten (x;y) des Ergebnisbildes.

Weiterhin ist es von Vorteil, wenn man die Transparenz einer schärfentiefenerweiterten Abbildung eines transparenten oder teiltransparenten Objektes beeinflussen kann.

Durch die Steuerung der Bildtransparenz der schärfentiefenerweiterten Abbildung transparenter oder teiltransparenter Objekte wird es möglich, durch die intransparente Darstellung des transparenten Objektes dessen Oberflächengestalt deutlicher darzustellen.

Ebenso können durch eine Erhöhung der Transparenz der schärfentiefenerweiterten Abbildung eines transparenten Objektes Strukturdetails, die sonst von weiter vom liegenden Objektteilen verdeckt sind, deutlicher erkannt werden.

Wenn zwei schärfentiefenerweiterte Abbildungen eines transparenten Objektes als Stereobildpaar verwendet werden, bewirkt die Steigerung der Transparenz der Abbildungen eine vorteilhafte Erhöhung der Plastizität und der wahrnehmbaren Tiefenstaffelung des räumlichen Bildeindruckes.

Gemäß Figur 10 werden zur Erhöhung bzw. Verminderung der Transparenz einer schärfentiefenerweiterten Abbildung die vom Schärfekriterium ermittelten Schärfewerte in Abhängigkeit von ihrer longitudinalen Position innerhalb des Schärfebildstapels so verändert, daß bei der anschließenden synthetischen Rekonstruktion des Ergebnisbildes durch die Wichtungsfunktion die Bildinformationen der verschiedenen Ebenen des Schnitt-

5

15

20

bildstapels entsprechend ihrer longitudinalen Position bevorzugt bzw. benachteiligt werden:

- zur Vergrößerung der Transparenz $S_M(X;Y;Z) = S(x;y;z) * (1 + F*(z-1))$
 - zur Verringerung der Transparenz $S_{M}(x;y;z)=S(x;y;z)*(1+F*(z_{max}-z))$
- 10 Es gelten folgende Voraussetzungen:

 $S_ix;y;z)$ bezeichnet den Schärfewert, der dem Pixel P(x;y;z) zugeordnet ist, wie schon bei der Erläuterung der Wichtungsfunktion beschrieben.

 $S_M(x;y;z)$ ist der zur Steuerung der Transparenz veränderte Wert von S(x;y;z), der anstelle von S(x;y;z) von der Wichtungsfunktion zur synthetischen Rekonstruktion des Ergebnisbildes als Argument verwendet wird.

Der Faktor F ist eine positive Zahl, deren Wert den Grad der Beeinflussung der Transparenz steuert.

20 Z_{max}ist die Schnittbildanzahl pro Schnittbildstapel.

Die Pixel- und Schärfewerte des obersten Schnittbildes im Schnittbildstapels haben die z-Koordinate 1.

25

30

35

5

In der Mikroskopie ist es oft notwendig, Abbildungen des Objektes, die mit unterschiedlichen Kontrastierungsverfahren aufgenommen wurden, zu überlagern, um zusätzliche Strukturinformationen zu erhalten. Dies geschieht üblicherweise durch die photographische Überlagerung. Ebenso ist auch die digitale oder analoge Mischung der Bilder möglich, die durch einfache Mittelwertbildung realisiert wird. Durch diese "konventionelle" Mischtechnik kann es jedoch vorkommen, daß wichtige, aussagekräftige Strukturdetails des einen Bildes im Ergebnisbild der Mischung durch inhaltslose, weniger wichtige Bildelemente eines anderen Bildes unterdrückt werden, da die

19

verschiedenen Bildbereiche der Ausgangsbilder beim Mischprozeß gleichberechtigt sind.

Zur Vermeidung dieses Nachteils wird ein strukturgesteuertes

Mischverfahren angewendet, bei welchem die Anteile der
einzelnen Ausgangsbilder am Mischbild durch die ihnen zugeordneten zusätzliche Strukturdaten gesteuert werden, welche
in Form eines Strukturbildes innerhalb des STE-Verfahrens aus
dem Schärfebildstapel gewonnen und zusammen mit dem Ergebnisbild des STE-Verfahrens zur weiteren Verarbeitung im strukturgesteuerten Mischprozeß abgespeichert werden.

Figur 11 zeigt die Einbindung der Strukturbild-Gewinnung und der strukturgesteuerten Bildmischung in das Verfahren der STE als Ausführungsbeispiel des strukturgesteuerten Mischverfahrens für zwei Ausgangsbilder mit den ihnen zugeordneten Strukturdaten in Form von Strukturbildern.

Es sind prinzipiell beliebig viele Teilbilder als Ausgangs-20 bilder für die strukturgesteuerte Bildmischung möglich.

Ein Beispiel für die Gewinnung eines Strukturbildes aus dem Schärfebildstapel ist die Aufsummierung der Schärfewerte des Schärfebildstapels in longitudinaler Richtung für jedes Element des Strukturbildes.

Wenn T(x;y) das Element des Strukturbildes mit den Koordinaten (x;y) bezeichnet, welches dem Pixel E(x;y) des Ergebnisbildes des STE-Verfahrens eindeutig zugeordnet ist, ergibt sich der Strukturwert T(x;y) durch:

$$T(x;y) = \sum_{z=1}^{z_{max}} S(x;y;z)$$

15

25

S(x;y;z) bezeichnet dabei den Schärfewert des Pixels P(x;y;z) des Schnittbildstapels, wie schon bei der Beschreibung der Wichtungsfunktion erwähnt.

5

10

15

20

Falls das im strukturgesteuerten Mischverfahren zu verarbeitende Bild keine ihm zugeordneten Strukturdaten besitzt, können diese nachträglich durch Anwendung eines lateralen Schärfe- bzw. Strukturkriteriums auf das zu verarbeitende Bild erzeugt werden, wodurch dieses Bild dem strukturgesteuerten Mischverfahren zugänglich gemacht werden kann.

Die strukturgesteuerte Bildmischung von zwei Ausgangsbildern, die keine durch den STE-Prozeß zugeordnete Strukturdaten aufweisen, ist schematisch in Figur 12 dargestellt.

Der strukturgesteuerte Mischprozeß kann die Steuerung der Anteile der einzelnen Ausgangsbilder am Ergebnisbild des Mischprozesses mit Hilfe der den Ausgangsbildern zugeordneten Strukturdaten zum Beispiel wie folgt realisieren:

$$M(x,y) = \frac{\sum_{i=1}^{i_{max}} (T_i(x,y) * E_i(x,y))}{\sum_{i_{max}} (T_i(x,y))}$$

25

30

Es gelten folgende Voraussetzungen:

 $E_i\left(x;y\right)$ bezeichnet die Intensitäts-Daten des Pixels mit den Koordinaten $\left(x;y\right)$ des Ausgangsbildes Nummer i

 $T_i(x;y)$ bezeichnet den Strukturwert des Strukturbildes, der dem Pixel $E_i(x;y)$ zugeordnet ist

i max gibt die Anzahl der zu mischenden Ausgangsbilder an

21

M(x;y) bezeichnet die Intensitätsdaten des Pixels mit den Koordinaten (x;y) des Ergebnisbildes des Mischverfahrens.

Bei der Aufnahme eines Schnittbildstapels werden die einzelnen Teilbilder des Schnittbildstapels mit Hilfe einer CCD-Videokamera aufgenommen und anschließend digitalisiert.

Da der CCD-Wandler der Videokamera nur einen begrenzten Dynamikumfang hat, kommt es vor, daß helle Bilddetails überstrahlt sind oder dunkle Passagen keine Durchzeichnung aufweisen. Es ist selten möglich, ein Bild mit optimaler Belichtung in allen Bereichen zu erhalten. Bei überstrahlten oder zu dunklen, schlecht durchgezeichneten Bildteilen gehen jedoch wertvolle Informationen über das Objekt verloren.

15

20

10

Zur Vermeidung dieses Nachteils wird der Prozeßabschnitt der Bildgenerierung BG durch den Prozeßabschnitt der Bildgenerierung BGD ersetzt. Der Bildgenerierungsprozeß BGD generiert Schnittbildserien, welche Schnittbilder mit erweitertem Dynamikumfang enthalten und führt diese dem STE-Prozeß zu.

Der Prozeßabschnitt BGD unterscheidet sich vom Prozeßabschnitt BG durch folgende Merkmale:

- 25 · Anstelle der Aufnahme eines einzelnen Schnittbildes wird eine Belichtungsreihe aufgenommen.
 - · Die Fokusposition ist innerhalb einer Belichtungsreihe konstant.

30

Die Anzahl der Teilbilder der Belichtungsreihe und deren Belichtungsabstufung wird derart gewählt, daß jeder Pixel des Bildes mindestens in einem Bild der Belichtungsreihe im optimalen Arbeitsbereich der Kamera erfaßt wurde.

22

 Aus den Teilbildern der Belichtungsreihe wird ein Schnittbild mit erweitertem Dynamikumfang gebildet.

 Das Schnittbild mit erweitertem Dynamikumfang ist Bestandteil eines Schnittbildstapels im STE-Prozeß.

Das aus dem STE-Prozeß resultierende Ergebnisbild mit erweitertem Dynamikumfang muß aufgrund des für übliche Displaysysteme zu hohen Dynamikumfanges vor dem Prozeßschritt der Bildwiedergabe einen Dynamikkompressionsschritt DK durchlaufen, um angezeigt werden zu können (vgl. Fig. 13).

Die Darstellung des stereoskopischen Bildes ist normalerweise speziellen Stereodisplaysystemen vorbehalten, deren Aufstellung zusätzlichen Raum beansprucht und Kosten verursacht.

Diese Nachteile werden vermieden, wenn gemäß einem Ausführungsbeispiel der Monitor des Computers gleichzeitig als Stereodisplay genutzt werden kann.

20

25

30

5

10

15

Zur stereoskopischen Wiedergabe des Stereobildpaares über den Computermonitor werden beide Teilbilder des Stereobildpaares jeweils als Vollbild in alternierender Reihenfolge mit einer Bildwiederholfrequenz oberhalb der Flimmergrenze wiedergegeben, wobei mit Hilfe entsprechender Shuttertechnik das jeweilige Stereoteilbild dem entsprechenden Auge zugeführt wird. Hierfür befindet sich das gesamte Stereobildpaar im Grafikspeicher der Grafikkarte und es erfolgt die Umschaltung zwischen der Wiedergabe des rechten und des linken Teilbildes durch Veränderung der Startadresse des auf dem Monitor dargestellten Grafikspeicherausschnittes

Patentansprüche

5

- 1. Verfahren zur hochauflösenden Stereomikroskopie mit erweiterter Raumtiefe, wobei zur stereomikroskopischen Darstellung des mikroskopischen Objektes durch ein Stereobildpaar
 Teilbilder des Stereobildpaares durch eine nichtlineare
 Schärfentiefenerweiterung aus zwei parallaktischen Schnittbildstapeln bereitgestellt werden.
- Verfahren nach Anspruch 1,
 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
 daß zur Stereokanaltrennung der optische Übertragungsweg eines verwendeten Mikroskops durch zeitlich serielle Erzeugung parallaktischer Schnittbildserien zeitmultiplex ausgenutzt wird.
- Verfahren nach Anspruch 1, 20 dadurch gekennzeichnet, daß zur nichtlinearen Schärfentiefeerweiterung optischer Abbildungen, insbesondere zur Generierung schärfentiefeerweiterter Abbildungen, transparente Objekte im Schritt der Ergebnisbildsynthese zur Rekonstruktion des Ergebnisbildes 25 Bildinformationen aus allen Bildebenen des Schnittbildstapels zugelassen werden, wobei der Anteil der einzelnen Bildelemente der verschiedenen Schnittbildebenen am Ergebnisbild durch eine Wichtungsfunktion bestimmt wird, deren Argumente jeweils die vom Schärfekriterium gebildeten Schärfewerte 30 dieser Bildelemente sind.
- 4. Verfahren nach Anspruch 3,
 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
 daß zur Erhöhung bzw. zur Verminderung der Transparenz einer schärfetiefenerweiterten Abbildung die vom Schärfekriterium

2 4

ermittelten Schärfewerte in Abhängigkeit von ihrer longitudinalen Position innerhalb des Schärfebildstapels so verändert werden, daß bei der anschließenden synthetischen Rekonstruktion des Ergebnisbildes durch die Wichtungsfunktion die Bildinformationen der verschiedenen Ebenen des Schnittbildstapels entsprechend ihrer longitudinalen Position bevorzugt oder benachteiligt werden.

- 5. Verfahren nach einem der vorangegangenen Ansprüche,
 10 dad urch gekennzeichnet,
 daß zur strukturgesteuerten Bildmischung den an der Bildmischung beteiligten Ausgangsbildern jeweils Strukturdaten in
 Form von Strukturbildern zugeordnet sind, welche den Anteil
 der einzelnen Ausgangsbilder am Ergebnisbild der Bildmischung
 15 bestimmen.
- Verfahren nach Anspruch 5,
 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
 daß die Ausgangsbilder der strukturgesteuerten Bildmischung
 Ergebnisbilder des Schärfentiefenerweiterungsschrittes sind,
 wobei die zugeordneten Strukturdaten aus dem Schärfebildstapel dieses Schrittes gewonnen werden.
 - 7. Verfahren nach Anspruch 5,
- 25 dadurch gekennzeichnet, daß zur Verarbeitung von beliebigen Ausgangsbildern die zugehörigen Strukturdaten durch Anwendung eines lateralen Schärfekriteriums auf das zu mischende Ausgangsbild gewonnen werden.

8. Verfahren nach einem der vorangegangenen Ansprüche, dad urch gekennzeichnet, daß die stereoskopische Bildwiedergabe auf einem Personalcomputer-Monitor erfolgt, wobei zur alternierenden Wiedergabe der beiden Stereoteilbilder sich das gesamte Stereobild in einem Grafikspeicher einer Grafikkarte des Personalcomputers

2 5

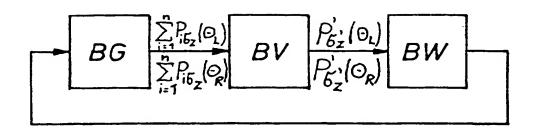
befindet und die Umschaltung zwischen der Wiedergabe des rechten und des linken Teilbildes durch Veränderung einer Startadresse des auf dem Personalcomputer-Monitors dargestellten Grafikspeicherausschnittes erfolgt.

5

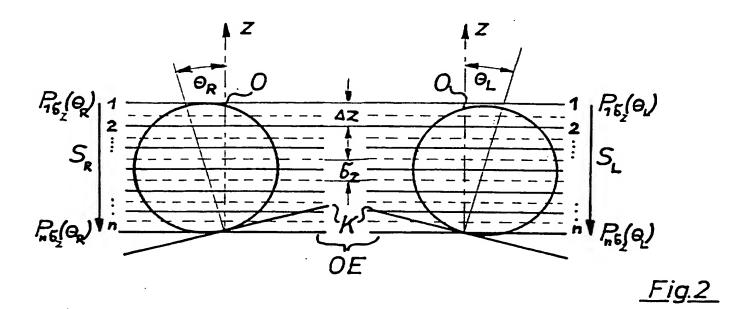
- 9. Anordnung zur Durchführung des Verfahrens zur hochauflösenden Stereomikroskopie mit erweiterter Raumtiefe,
 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
 daß zur Erzeugung parallaktischer Schnittbildserien mechanisch schaltbare Baugruppen im abbildungsseitigen Strahlengang eines Mikroskops angeordnet sind, die eine alternierende
 Abbildung des Objektes unter beiden parallaktischen Projektionsrichtungen ermöglichen.
- 15 10. Anordnung nach Anspruch 9, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß zur Erzeugung parallaktischer Schnittbildserien das mikroskopische Objekt auf einem Kippadapter angeordnet ist.
- 20 11. Anordnung nach Anspruch 9, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß zur Erzeugung parallaktischer Schnittbildserien ein Mikroskopobjektiv auf einer gegenüber der Objektebene ausgebildeten Keilfläche einer drehbar gelagerten Objektivhalterung exzentrisch zur optischen Achse des Mikroskopes angeordnet und mit einer Baugruppe zur Korrektur des Strahlenganges mechanisch verbunden ist.
 - 12. Anordnung nach Anspruch 11,
- 30 dadurch gekennzeichnet, daß die Baugruppe zur Korrektur des Strahlenganges ein Prisma aufweist.

26

13. Anordnung nach einem der Ansprüche 9 bis 12, dad urch gekennzeich hnet, daß diese aus einem konventionellen Lichtmikroskop mit einer Vorrichtung zur Generierung parallaktischer Schnittbildserien besteht und eine elektronische Datenverarbeitungseinheit aufweist, wobei die Aufnahme parallaktischer Schnittbildserien sowie deren Weiterverarbeitung zur schärfetiefenerweiterten Abbildung der parallaktischen Projektionen des mikroskopischen Objektes sowie deren stereoskopischer Wiedergabe zur räumlichen Darstellung des mikroskopischen Objektes unter Steuerung durch die elektonische Datenverarbeitungseinheit automatisch erfolgt.



<u>Fig.1</u>



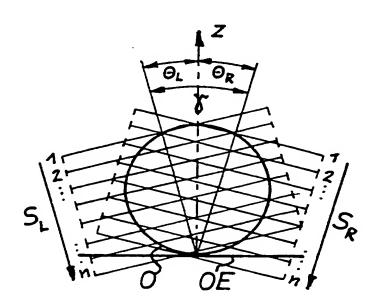
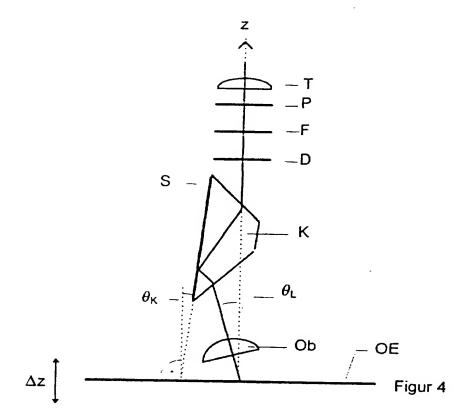
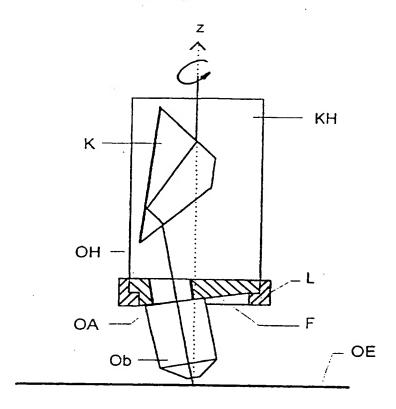


Fig.3

2/6







Figur 5

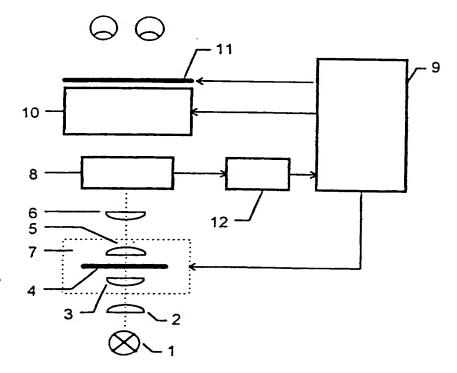
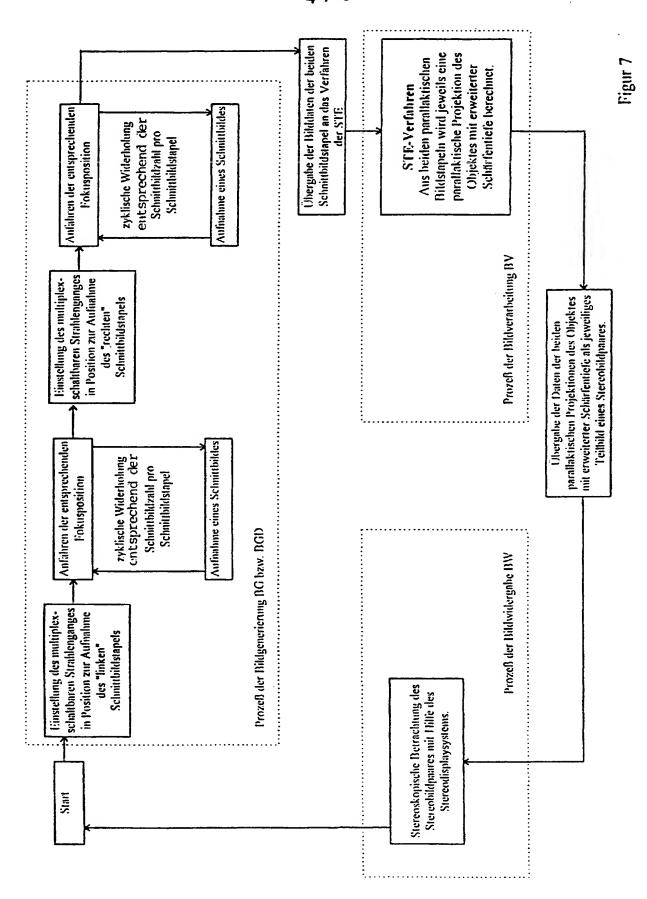
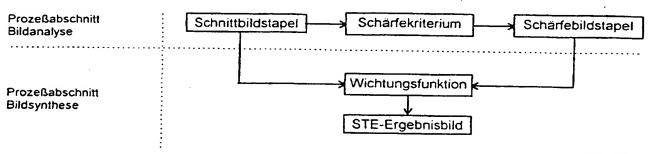
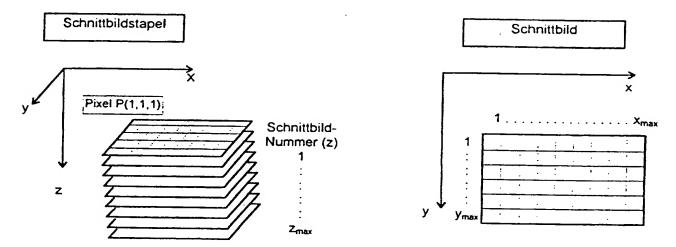


Fig. 6

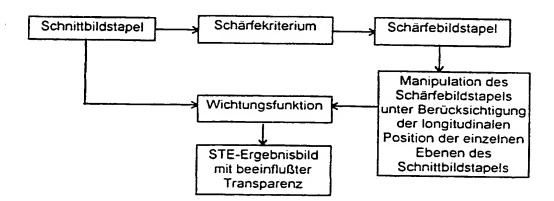




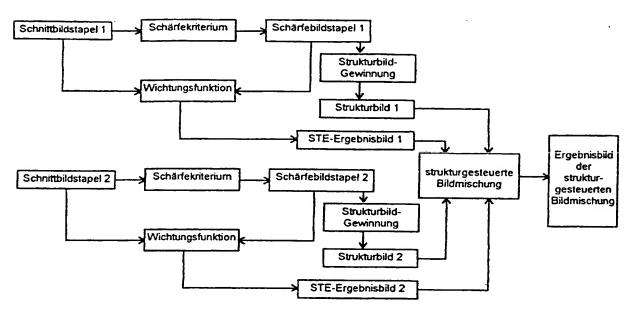
Figur 8



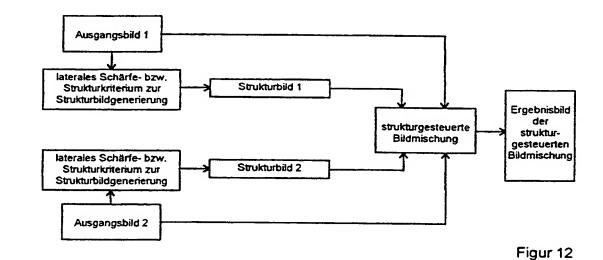
Figur 9



Figur 10



Figur 11



BGD BV DK BW

Figur 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ational Application No PCT/EP 96/00533

		I PCT	/EP 96/00533
A. CLASSI IPC 6	FICATION OF SUBJECT MATTER G02B21/22		
According to	o International Patent Classification (IPC) or to both national classifi	ication and IPC	
	SEARCHED	icadolf and II C	
	ocumentation searched (classification system followed by classificati	on symbols)	
IPC 6	G02B		
Documentat	son searched other than minimum documentation to the extent that s	ruch documents are included in	the fields searched
Electronic d	ata base consulted during the international search (name of data base	e and, where practical, search t	erms used)
C. DOCUM	ENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the re-	levant passages	Relevant to claim No.
x	APPLIED OPTICS, vol. 12, no. 10, October 1973, NE US, pages 2509-2519, XP002007157 J.S. COURTNEY-PRATT ET AL.: "Mic with enhanced depth of field and capability" siehe "Introduction" ICASSP 86 (INTERNATIONAL CONFEREN ACOUSTICS, SPEECH, AND SIGNAL PRO 7 - 11 April 1986, TOKYO, XP0020 S. KAWATA ET AL.: "Constrained r enhancement in optical microscopi tomography" siehe "introduction" und "System optical microscope tomography"	croscope 3-D ICE ON ICESSING), 107158 resolution C	1-13
		/	
X Furd	her documents are listed in the continuation of box C.	Patent family member	s are listed in annex.
'A' docume consider in the considering of the consi	ent defining the general state of the art which is not ered to be of particular relevance document but published on or after the international date ent which may throw doubts on priority claim(s) or is cited to establish the publication date of another in or other special reason (as specified) ent referring to an oral disclosure, use, exhibition or means ent published prior to the international filing date but	or priority date and not in cited to understand the prinwention "X" document of particular relicannot be considered now involve an inventive step of document of particular relicannot be considered to indocument is combined with	d or cannot be considered to when the document is taken alone evance; the claimed invention ivolve an inventive step when the th one or more other such docubering obvious to a person skilled
	July 1996	Date of mailing of the inte	mational search report
Name and r	nailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Ruswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Authorized officer Sarneel, A	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

1 sational Application No PCT/EP 96/00533

C (Continuence) DOCUMENTS CONSIDERED TO DE DE SU		PCT/EP 96/00533	
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Category * Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages Relevant to claim No.			
	with an analogous, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	
A	APPLIED OPTICS, vol. 22, no. 10, 15 May 1983, NEW YORK US, pages 1449-1453, XP002007159 R.J. PIEPER ET AL.: "Image processing for extended depth of field" cited in the application see the whole document	1-13	
	·	-	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int ionales Aktenzeichen
PCT/EP 96/00533

_			
A. KLASSI IPK 6	FIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES G02B21/22		
Nach der In	ternationalen Patentkiassifikation (IPK) oder nach der nationalen Kla	ssifikation und der IPK	
	RCHIERTE GEBIETE		
IPK 6	ter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbol GO2B	ic)	
Recherchien	te aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, son	veit diese unter die recherchierten Gebiete	fallen
Während de	er internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Na	ume der Datenbank und evtl. verwendete	Suchbegrife)
C. ALS W	ESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategone*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe	e der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Х	APPLIED OPTICS, Bd. 12, Nr. 10, Oktober 1973, NEW US, Seiten 2509-2519, XP002007157 J.S. COURTNEY-PRATT ET AL.: "Mic with enhanced depth of field and capability" siehe "Introduction"	roscope	1-13
X	ICASSP 86 (INTERNATIONAL CONFEREN ACOUSTICS, SPEECH, AND SIGNAL PRO 7 11.April 1986, TOKYO, XP002 S. KAWATA ET AL.: "Constrained renhancement in optical microscopi tomography" siehe "introduction" und "System optical microscope tomography"	CESSING), 007158 esolution c	1-13
		, 	
Besonder 'A' Veröf aber 'E' ältere: Anm	ffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist s Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen	T Spätere Veröffentlichung, die nach de oder dem Priontatsdatum veröffentlich Anmeldung nicht kollidiert, sondem Erfindung zugrundeliegenden Prinzip Theone angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bed kam allein aufgrund dieser Veröffent	cht worden ist und mit der nur zum Verständnis des der is oder der ihr zugrundeliegenden eutumg: die beanspruchte Erfindung
schen ander soil of ausge 'O' Veröl eine 'P' Veröl	nen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer ren im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie eführt) ffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht ffentlichung, die vor dem internationalen Armeidedatum, aber nach beanspruchten Prionitätsdatum veröffentlicht worden ist	erfinderischer Tätigkeit berühend bet 'Y' Veröffentlichung von besonderer Bed kann nicht als auf erfinderischer Täti werden, wenn die Veröffentlichung,n Veröffentlichungen dieser Kategorie diese Verbindung für einen Fachmar '&' Veröffentlichung, die Mitglied dersel	rachtet werden euning; die beanspruchte Erfindung gkeit berühend betrachtet hit einer oder mehreren anderen in Verbindung gebracht wird und in naheliegend ist ben Patentfamilie ist
	s Abschlusses der internationalen Recherche 1.Juli 1996	Absendedatum des internationalen R	echerchenbenchts
Name und	3 Postanschnit der Internationale Recherchenbehorde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk	Bevoilmachtigter Bediensteter	
	Tel. (- 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+ 31-70) 340-3016	Sarneel, A	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int sonales Aktenzeichen
PCT/EP 96/00533

		PCT/EP 9	6/00533	
C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN				
Kategone*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komm	enden Teile	Betr. Anspruch Nr.	
A	APPLIED OPTICS, Bd. 22, Nr. 10, 15.Mai 1983, NEW YORK US, Seiten 1449-1453, XP002007159 R.J. PIEPER ET AL.: "Image processing for extended depth of field" in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument		1-13	
,				